

## カエルの Twitch Muscle Fiber の Caffeine 拘縮 に対するカリウム脱分極の影響

永井 格 篠崎 文彦

札幌医科大学口腔外科学講座 (主任 小浜源郁教授)

太 田 勲

札幌医科大学生理学第1講座 (主任 永井寅男教授)

### Effect of Potassium-induced Depolarization on Caffeine Contracture in Frog Twitch Muscle Fibers

Itaru NAGAI and Fumihiko SHINOZAKI

Department of Oral Surgery, Sapporo Medical College  
(Chief: Prof. G. KOHAMA)

Isao OOTA

Department of Physiology (Section 1), Sapporo Medical College  
(Chief: Prof. T. NAGAI)

The effect of potassium-induced depolarization on caffeine contracture was examined using single twitch fibers and thin bundles consisting of 2 or 3 twitch fibers which were isolated from frog semitendinosus muscle. The following results were obtained.

1) The magnitude and the rate of rise of caffeine contracture tension increased, whereas the rate of spontaneous relaxation of the contracture decreased markedly in the depolarized muscle fibers.

2) The extent of increase in the magnitude of the contracture tension was hardly affected by that of depolarization.

3) In the depolarized muscle fibers, the extent of increase in the magnitude of the contracture tension induced by 5 mM caffeine was more pronounced than that by 7.5 mM caffeine.

On the basis of these results, the mechanisms of the increase of caffeine contracture and of the decrease of its spontaneous relaxation in the depolarized muscle fibers were discussed.

(Received October 6, 1978 and accepted December 11, 1978)

## 1 緒 言

Axelsson and Thesleff<sup>1)</sup> 以来、カエル骨格筋の caffeine 拘縮は、カリウムによる脱分極 (K 脱分極) 下にも起こるばかりでなく、むしろ増強されることが報告されている<sup>2,3)</sup>。最近、Foulks *et al.*<sup>4)</sup> は、K 脱分極下の caffeine 拘縮の最大張力は、脱分極の程度 (あるいは K 濃度) に依存することを報告している。すなわち、caffeine 拘縮の最大張力は、低濃度 K (7~30 mM) 下に増強されるが、高濃度 K (60 mM 以上) 下には、著明に抑制されるという。

本論文では、上述の問題を整理し、さらにカエルの twitch fiber の caffeine 拘縮と K 拘縮の関係に関する研究とも関連して、カエルの twitch fiber を用いて、caffeine 拘縮に対する K 脱分極の影響を、とくに caffeine 拘縮の

最大張力ならびに張力発生速度に注目して検討した成績を述べる。

## 2 材料および方法

### 2.1 材 料

カエル (*Rana japonica*) の semitendinosus muscle から single twitch fiber あるいは 2~3 本の twitch fiber から成る thin bundle を分離し、それらを使用した。

### 2.2 機械的応答の記録

標本の機械的応答は、前報<sup>5)</sup>と同様の装置ならびに方法により記録された。液交換は、Hodgkin and Horowitz<sup>6)</sup>の方法に準じて行なうことにより chamber (容量、約 1 ml) 内の液は、1 秒以内に交換された。実験は、すべて室温 (18~23°C) 下で行なわれた。

Table 1 The composition of solution (concentration in mM)

	NaCl	KCl	CaCl <sub>2</sub>	Choline Chloride	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Normal-Ringer	115	2.5	1.8	—	—
Choline-Ringer	—	2.5	1.8	115	—
20 K-solution	—	20	1.8	97.5	—
40 K-solution	—	40	1.8	77.5	—
60 K-solution	—	60	1.8	57.5	—
190 K-solution	—	—	1.8	—	95

The pH was adjusted to 7.0~7.2 by 5 mM Tris-HCl buffer.

### 2.3 溶 液

本実験で用いられた溶液の組成は、Table 1 に示す通りである。

### 2.4 試 薬

Caffeine は、和光純薬工業株式会社製を使用した。他のすべての試薬は、市販特級品を用いた。

### 3 成 績

5 mM caffeine による拘縮に対する K 脱分極の影響を Fig. 1 に示した。対照の caffeine 拘縮は、caffeine 作用後 8~15 秒で最大張力に達し、その後外液に caffeine が存在するにもかかわらず、約 30 秒後には最大張力の約 15% まで自発的に弛緩したが、1 分後でもなおわずかな張力を維持していた (Fig. 1 a-C)。この拘縮の最大張力は、190 K 拘縮 (Fig. 1 A) の最大張力に対する割合で表わすと、平均  $47.6 \pm 3.7\%$  ( $n=5$ ) であり、この成績は前報<sup>5)</sup>のそれとほぼ一致した。

標本が 20 mM K, 40 mM K, 60 mM K および 190 mM K 液に浸漬されると、それぞれの K 濃度に応じた一過性の拘縮を起こし、それらの K 拘縮は、いずれも 20 秒以内に完全に自発的に弛緩した (Fig. 1 B)。20 mM K 液で 1 分間前処理された条件下の 5 mM caffeine 加 20 mM K による拘縮は、対照に比し張力発生速度を増したが、自発性弛緩速度を著明に抑制した。この拘縮の最大張力は、190 K 拘縮のその平均  $75.4 \pm 4.6\%$  ( $n=6$ ) で、この条件下に最大張力は増強されることが示された (Fig. 1 b-C)。40 mM K, 60 mM K ならびに、190 mM K 下に 1 分間前処理された条件下の 5 mM caffeine 拘縮の最大張力は、190 K 拘縮のそのそれぞれ平均  $78.0 \pm 3.5\%$  ( $n=3$ )、平均  $82.8 \pm 3.9\%$  ( $n=3$ ) および平均  $81.3 \pm 3.8\%$  ( $n=3$ ) であった (Fig. 1 c-C, d-C and e-C)。

次に、7.5 mM caffeine 拘縮に対する K 脱分極の影響を Fig. 2 に示した。対照の 7.5 mM caffeine 拘縮は、多くの場合二相性を示した。すなわち、caffeine 作用後最初

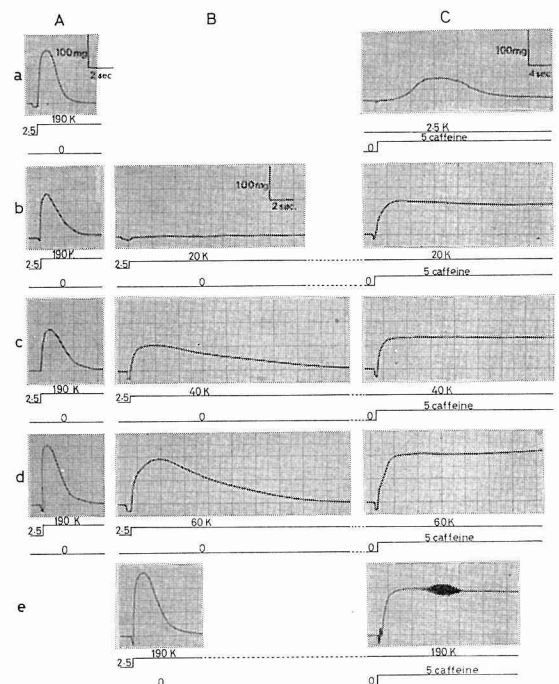


Fig. 1 Effect of potassium-induced depolarization on caffeine contracture in thin bundle consisting of 2 twitch fibers of the frog.

A: Potassium contractures induced by 190 K-solution.

B: Potassium contractures induced by various concentrations of K<sup>+</sup>. K<sup>+</sup> concentration was 20 mM in b, 40 mM in c, 60 mM in d and 190 mM in e, respectively.

C: Caffeine contractures under the depolarized condition. Thin bundles were immersed for 1 min in solutions containing various concentrations of K<sup>+</sup> which were shown below each record. Caffeine concentration was 5 mM.

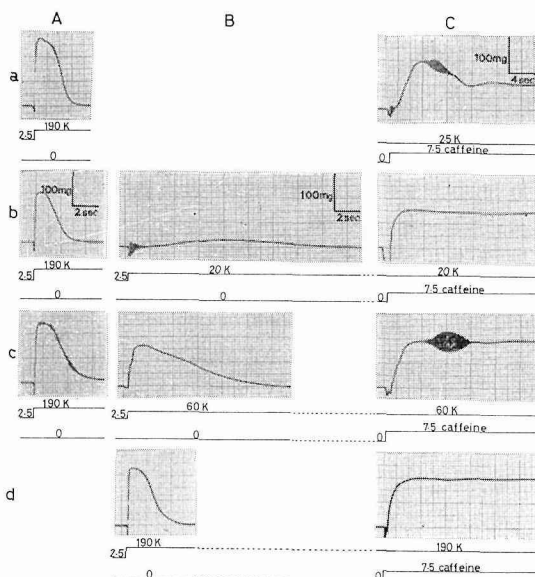


Fig. 2 Caffeine contracture in depolarized thin bundle consisting of 2 twitch fibers of the frog.

A: Potassium contractures induced by 190 K-solution.

B: Potassium contractures induced by various concentrations of  $K^+$ .  $K^+$  concentration was 20 mM in b, 60 mM in c and 190 mM in d, respectively.

C: Caffeine contractures under the depolarized condition. Thin bundles were immersed for 1 min in solutions containing various  $K^+$  concentrations which were shown below each record. Caffeine concentration was 7.5 mM.

に起こる一過性収縮とこれに継起する持続的収縮である (Fig. 2 a-C). 一過性収縮は, caffeine 作用後 5~10 秒 ( $n=12$ ) で最大張力に達し, 15~20 秒でその 15~35% まで自発的に弛緩した. しかし, 標本は完全に弛緩することなく, 極めて緩徐に張力を増す持続的収縮へ移行した. これらの成績は, 前報<sup>5)</sup> の 7 mM caffeine 拘縮の場合とほぼ同様であった. 一過性収縮の最大張力は, 5 mM caffeine 拘縮の場合と同様に 190 K 拘縮の最大張力に対する割合として表わすと, 平均  $70.5 \pm 3.2\%$  ( $n=12$ ) であった. 前述の 5 mM caffeine 拘縮の場合と同様に, 20 mM K 液で 1 分間前処理された条件下の 7.5 mM caffeine 加 20 mM K による拘縮は, 対照に比し張力発生速度を増したが, 自発性弛緩の速度を明らかに減じた (Fig. 2 b-C). この拘縮の最大張力は, 190 K 拘縮のその平均  $78.7 \pm 2.0\%$  ( $n=3$ ) で, この条件下に最大張力は増強されることが示された. 60 mM K および 190 mM K 下に 1 分間処理された条件下の 7.5 mM caffeine 拘縮の最大張力は, 190 K 拘縮のそのそ

れぞれ平均  $79.2 \pm 1.9\%$  ( $n=3$ ) および  $79.3 \pm 2.5\%$  ( $n=4$ ) であった (Figs. 2 c-C and d-C). なお, 以上に述べた K 脱分極下の caffeine 拘縮は, いずれの場合も caffeine 作用後少なくとも 30 秒以内に正常 Ringer 液で標本を洗滌することにより完全に弛緩した.

Fig. 3 は, 以上の K 脱分極下の caffeine 拘縮の最大張力の増強に関してまとめたものである. K 脱分極下の caffeine 拘縮の最大張力は, K 脱分極の程度にほとんど関係なく, 20 mM 以上の K による脱分極下で, ほぼ同程度に増強された. しかし, この条件下の最大張力の増強の程度は, 5 mM caffeine 拘縮の方が 7.5 mM caffeine 拘縮の場合より著明で, 両者の最大張力は, ほぼ等しくなることが示された.

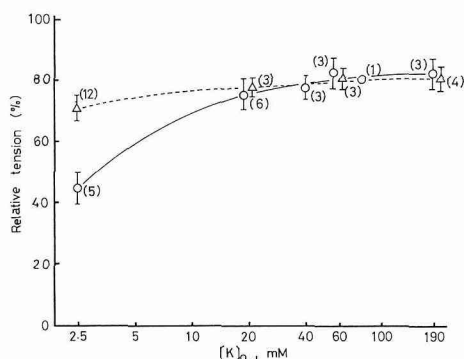


Fig. 3 Relation between the magnitude of caffeine contracture tension and the external  $K^+$  concentration.

The ordinate gives the magnitude of caffeine contracture tension which is expressed as percentage of the maximum tension of 190 K-contracture. The abscissa gives the external  $K^+$  concentration on a logarithmic scale. Caffeine concentration:  $\circ$ ; 5 mM,  $\Delta$ ; 7.5 mM. Vertical bar of each point gives mean  $\pm$  S. E. The number of experiments performed is given in parentheses.

#### 4 考 察

われわれの成績において, K 拘縮が完全に自発的に弛緩した後でも, caffeine 拘縮は起こるばかりでなく, むしろ増強され, しかも K 脱分極の程度にほとんど影響されなかった (Figs. 1~3). この成績は, 従来の報告<sup>1~3)</sup> にほぼ一致する. しかし, Foulks *et al.*<sup>4)</sup> の成績とは異なる. 彼ら<sup>4)</sup> は, K 脱分極下の caffeine 拘縮 (3 mM caffeine) の最大張力は, 脱分極の程度に依存し, 7~30 mM K 下では増強されるが, 60 mM 以上の K 濃度下ではむしろ抑制されることを報告している. Foulks *et al.*<sup>4)</sup> は, この成績に関して, 低濃度 K 下の caffeine 拘縮の増強は potential-

independent な caffeine 拘縮に, potential-dependent な component が重畳したことにより, 一方高濃度 K 下の caffeine 拘縮の抑制は, caffeine により Ca 遊離が起こされる場と K 脱分極によるそれとが共通であるために, 高濃度 K により前処理されると, Ca 遊離を起こす場の感受性が次に与えられる caffeine に対して低下していることによると考えている. しかし, 上述のわれわれの成績が示すように, 190 mM K で十分に膜が脱分極されている条件下でさえ, caffeine 拘縮が増強されて起こった事実 (Figs. 1 e and 2 d) は, Foulks *et al.*<sup>4)</sup> の成績ならびにそれに基づく彼らの考えを支持しない. しかし, われわれが用いた caffeine 濃度が高濃度であったために, Foulks *et al.*<sup>4)</sup> のいう感受性の低下が相殺されたという可能性も残ると思われる. しかしながら, 5 mM caffeine についても 7.5 mM caffeine の場合と同様の傾向が示された点 (Figs. 1~3) からこの可能性は除外されよう. なお, Foulks *et al.*<sup>4)</sup> が報告している caffeine 拘縮の threshold curve と前報<sup>5)</sup> のそれとを比較すると, 彼らの用いた 3 mM caffeine は, われわれの 7 mM caffeine にほぼ相当する.

K 脱分極下の caffeine 拘縮の最大張力の増強は, 恐らくこの条件下に caffeine の influx が増したことによると思われる. この考えは, 検討されたいずれの K 脱分極下にも張力発生速度が増したことによって支持されよう. また, K 脱分極下の caffeine 拘縮の弛緩速度が著明に減じた (Figs. 1 and 2). Weber and Herz<sup>7)</sup> によれば, 分離された筋小胞体の Ca 取り込みの速度は, caffeine により明らかに抑制されるという. この報告を考慮すると, 上のわれわれの成績は, influx した caffeine が筋小胞体の Ca 取り込みの速度を抑制したことで説明されよう. しかし, K 脱分極下の caffeine 拘縮の最大張力の増強と弛緩の抑制が K 脱分極の程度にほとんど依存しない点は注意を要する (Fig. 3). これは, 20 mM K による 1 分間の前処理ですでに caffeine influx の十分な増加がもたらされたことを示唆すると思われる. これらの点については, <sup>14</sup>C-caffeine influx に対する K 脱分極の影響を検討することにより明らかにされよう.

## 5 要 約

Caffeine 拘縮に対する K 脱分極の影響をカエルの semitendinosus muscle から分離した single twitch

fiber あるいは 2~3 本の twitch fiber から成る thin bundle を用いて検討し, 以下の成績を得た.

1) Caffeine 拘縮の最大張力ならびに張力発生速度は, K 脱分極下に増強されたが, 自発性弛緩は著明に抑制された.

2) K 脱分極下の caffeine 拘縮の最大張力の増強の程度は, K 脱分極の程度にほとんど影響されなかった.

3) K 脱分極下の 5 mM caffeine 拘縮の最大張力の増強の程度は, 7.5 mM caffeine 拘縮のそれより著明であった.

以上の成績に基づいて, K 脱分極下の caffeine 拘縮の増強の機序ならびに自発性弛緩の抑制の機序などが論ぜられた.

## 文 献

1. Axelsson, J. and Thesleff, S.: Activation of the contractile mechanism in striated muscle. *Acta Physiol. Scand.* **44**, 55-66 (1958).
2. Matsushima, T., Fujino, M. and Nagai, T.: Effects of anomalous anions on the caffeine contracture. *Jap. J. Physiol.* **12**, 106-112 (1962).
3. Gebert, G.: Caffeine contracture of frog skeletal muscle and of single muscle fibers. *Am. J. Physiol.* **215**, 296-298 (1968).
4. Foulks, J. G., Perry, F. A. and Sanders, H. D.: Effect of external potassium concentration on caffeine contractures in frog toe muscle. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **49**, 879-888 (1971).
5. Nagai, I., Oota, I. and Nagai, T.: Caffeine contracture in transverse tubules-disrupted fiber and effect of anomalous anions on the contracture in frog twitch fiber. *Jap. J. Physiol.* **28**, 783-798 (1978).
6. Hodgkin, A. L. and Horowicz, P.: The influence of potassium and chloride ions on the membrane potential of single muscle fibres. *J. Physiol.* **148**, 127-160 (1959).
7. Weber, A. and Herz, R.: The relationship between caffeine contracture of intact muscle and the effect of caffeine on reticulum. *J. Gen. Physiol.* **52**, 750-759 (1968).